

УДК 576.895.771

© 1991

**ВОЗМОЖНОСТЬ УСОВЕРШЕНСТВОВАНИЯ КУЛЬТУРЫ *Aedes togoi*
И НЕКОТОРЫЕ ДАННЫЕ ОБ ЭКОЛОГИИ ЭТОГО ВИДА****В. В. Ясюкевич, С. П. Расницын**

Выявлена возможность выращивания личинок в пресной воде на упрощенном кормовом рационе при плотности посадки 50 лич./дм² и содержания комаров в маленьких садках объемом 1 дм³. На основании того, что личинки успешно развиваются в воде, содержащей от 0 до 4 % NaCl, а комары предпочитают откладывать яйца в пресную воду, делается вывод, что исследованный штамм не солелюбив, а солеустойчив.

Повышенный интерес к комарам *Aedes togoi* Theobald, 1907 связан с тем, что они считаются важнейшими переносчиками японского энцефалита (Крашкевич, Тарасов, 1969; Маркович, 1974; Тарасов, 1988). Поскольку лабораторные культуры открывают большие возможности для многостороннего изучения объекта, в разных странах неоднократно создавались экспериментальные колонии этого вида (Чагин, 1943; Lien, 1960; Weathersby, 1962). Последнее и наиболее полное описание лабораторной культуры *Aedes togoi* в нашей стране опубликовано 10 лет тому назад (Александрова и др., 1978). Авторы этой работы несомненно учли опыт предыдущих исследователей, и поэтому при попытке создания культуры этого вида мы ориентировались главным образом на указанное описание. Это тем более имело смысл, так как наша культура была отводком от культуры, описанной в цитированной публикации.¹

В процессе поддержания *Ae. togoi* мы провели ряд экспериментов, результаты которых раскрыли новые стороны биологии данного вида и позволили существенно усовершенствовать методику его культивирования (сократить трудозатраты и производственные площади), чем мы и хотим поделиться с другими исследователями.

МЕТОДЫ

Личинок комаров содержали в эмалированных кюветах площадью 3,4 дм² с глубиной слоя воды 2 см. Первоначальные условия содержания во всем (кроме корма) соответствовали условиям культуры, из которой был взят исходный материал. Корм для личинок не дозировался. В течение развития личинок его добавляли. По мере отработки определенных условий (корм, соленость воды и т. д.) методы содержания личинок модернизировались. Как именно это происходило, указано в дальнейшем тексте.

В качестве характеристик культуры использованы следующие показатели: **в ы ж и в а е м о с т ь л и ч и н о к** — доля особей (в %), достигших стадии

¹ Пользуемся случаем выразить глубокую благодарность Н. А. Тамариной и Г. О. Лильпу, снабдивших нас исходным материалом.

куколки (окуклившихся) от вылупившихся из яиц; длительность развития — число суток от выхода личинок из яиц до их окукливания (сбор куколок проводили 1 раз в сутки); доля самок (в %) определялась на стадии куколки путем просмотра особей под микроскопом; масса женских куколок определялась по методике, описанной ранее (Расницын и др., 1983); осемененность самок определялась путем регистрации наличия спермиев в сперматеках; плодовитость самок определяли по числу развитых фолликулов (на 4—5-й стадиях Кристоферса) после завершения самками, принявшими полную порцию крови, процесса пищеварения; выживаемость куколок — доля особей (в %), из которых вылетели комары. В каждом опыте куколок разного пола разделяли, что давало возможность определять выживаемость самцов и самок отдельно.

Три последние характеристики определялись по репрезентативным выборкам (объем исследованного материала приведен вместе с результатами), а все остальные — по всем особям, включенным в соответствующие опыты.

РЕЗУЛЬТАТЫ

1. Корм для личинок. В исходной культуре питание личинок обеспечивалось сложным составом среды, который мы не могли воспроизвести из-за недостатка времени и средств. Известно, что другие виды этого рода могут успешно развиваться, получая в качестве пищи дрожжи или кормовой концентрат для лабораторных животных (Расницын, 1980; Charpen, Bagg, 1969; Singh e. a., 1974). Поэтому мы прежде всего попытались оценить возможность использования этих кормов и для данного вида. Эксперименты (табл. 1) не выявили существенной зависимости характеристик культуры от того, чем кормили личинок. Оба корма оказались вполне пригодными: выживаемость личинок была выше 90 % (в исходной культуре 84 %), развитие их длилось в среднем не более 9 сут (в исходной культуре — около 10 сут), масса женских куколок была такой же, как и в исходной культуре. В дальнейшем в опытах личинки получали дрожжи (их легче дозировать), а в рабочей культуре — кормовой концентрат (он дешевле). Использование указанных кормов обходится гораздо дешевле, чем среды, применявшейся в исходной культуре. Дело в том, что и дрожжи, и кормовой концентрат производятся промышленностью, а настой из торфа, мха и листьев с добавлением гематогена и витаминов приходится готовить вручную, что требует много времени и производственной площади.

2. Соленость среды обитания личинок. *Ae. togoi* считается солелюбивым видом (Маркович, 1974; McGinnis, Brust, 1983), имеющим специальные приспособления к жизни в условиях повышенного осмотического давления окружающей среды (Asakura, 1978, 1980, 1982). Поэтому в лабораторных культу-

Т а б л и ц а 1
Результаты выращивания личинок на разном корме
Results of rearing larvae on different food

Показатель	Корма	
	дрожжи	кормовой концентрат
Число опытов	22	24
Число особей	3740	4080
Доля выживших (%)	95±2	91±2
Длительность развития (сутки)	8.7±0.3	8.8±0.3
Вес женских куколок (мг)	8.1±0.1	7.9±0.1
Доля самок (%)	53±4	52±3

Т а б л и ц а 2
Развитие личинок в воде разной солености
Development of larvae in water of different salinity

Соленость воды (%)	Число опытов	Число личинок	Доля выживших (%)	Длительность развития до окукливания (сут)	Масса женских куколок (мг)	Доля самок (%)
0	7	1190	93±5	8.9±0.2	8.2±0.1	52±3
0.3	7	1190	96±2	9.4±0.3	8.2±0.1	50±3
0.6	7	1190	96±3	8.8±0.3	8.2±0.1	52±2
1	7	1190	98±2	8.7±0.2	8.2±0.2	50±4
2	7	1190	91±2	9.1±0.2	8.1±0.1	54±3
3	7	1190	93±2	9.7±0.3	7.4±0.2	53±4
4	8	1360	80±8	10.6±0.4	6.7±0.4	46±4
5	8	1360	44±11	12.6±0.5	5.9±0.3	47±7
6	8	1360	2±2	14.6±3.0	5.1±2.3	48±42

Т а б л и ц а 3
Результаты выращивания личинок при разной плотности посадки особей
Results of rearing larvae at different densities of holding individuals

Показатель	Плотность посадки особей на дм ²		
	10	25	50
Число опытов	32	28	31
Число особей	1088	2380	5270
Выживаемость (%)	95±1	94±1	93±2
Длительность развития (сутки)	8.4±0.1	8.7±0.2	9.0±0.2
Масса женских куколок (мг)	8.1±0.1	8.0±0.1	7.9±0.1
Доля самок (%)	56±4	50±3	52±2

Т а б л и ц а 4
Результаты выращивания личинок при разной температуре
Results of rearing larvae at different temperature

Показатель	Температура среды, в ⁰		
	16—19	26—27	29—32
Число опытов	4	8	6
Число особей	680	1360	1020
Доля выживших (%)	96±4	94±3	82±7
Длительность развития (сутки)	20.9±0.1	9.0±0.2	8.2±0.8
Масса женских куколок (мг)	10.6±0.2	7.9±0.2	6.3±0.2
Доля самок (%)	50±8	53±2	50±4

Т а б л и ц а 5
Плодовитость самок на 1-м репродуктивном цикле
Fecundity of females at the 1-st reproductive cycle

Средняя масса куколок (мг)	Число особей	Среднее число яиц в кладке	Средняя масса куколок (мг)	Число особей	Среднее число яиц в кладке
6.3	13	109±6	9.7	15	165±6
7.1	16	130±11	10.6	11	169±17
7.9	17	139±8	10.3	16	183±8
8.5	24	153±7	10.7	10	180±14

Т а б л и ц а 6
Осемененность комаров в садках разного размера
Insemination of mosquitoes in cages of different sizes

	Объем садка (дм ³)		
	1	5	64
Число особей в 1 садке	26—30	180—200	438—486
Число опытов на 8-е сутки	20	6	5
Число исследованных особей	267	193	184
Для осемененных (%) на 13-е сутки	66±9	93±9	97±3
Число исследованных особей	278	203	174
Доля осемененных (%)	88±5	97±4	100

рах личинок этого вида содержат в воде определенной солености (Weathersby, 1962; Александрова и др., 1978).

Достаточно точное поддержание солевого состава среды в сосудах с личинками доставляет много хлопот. Поэтому была предпринята попытка определить диапазон их выносливости к этому фактору. В отличие от предыдущих авторов мы не ограничивались регистрацией выживаемости и продолжительности развития, а оценивали также вес куколок, который, как известно, является хорошим морфофизиологическим индикатором состояния особей (Расницын, 1986).

В результате (табл. 2) обнаружено, что *Ae. togoi* одинаково хорошо развиваются в воде с содержанием NaCl от 0 до 2 %. Начиная с 3 % солености отмечается уменьшение массы куколок, а с 4 % — выживаемости и скорости развития. 6 % NaCl — концентрация, вероятно, близкая к предельной: в этих условиях выживает не более 3 % особей, масса уменьшается чуть ли не вдвое, а развитие удлинняется более чем в 1.5 раза. Во всех вариантах опыта доля женских куколок достоверно не отличалась от 50 %, что говорит об идентичности реакции особей разного пола на этот фактор.

Исходя из полученных результатов, мы перешли на содержание личинок в пресной воде (отстойной водопроводной) и все дальнейшие опыты проводили в этих условиях.

3. Плотность посадки личинок. Оптимизацией плотности посадки личинок *Ae. togoi* никто, видимо, не занимался. В литературе этот параметр условий содержания указывается редко и ничем не обосновывается. В то же время на примере других видов (Демина и др., 1985) мы знаем, что использо-

Т а б л и ц а 7
Откладка комарами яиц в воду разной солености
Laying eggs in water of different salinity

Концентрация соли (%)	Общее число яиц	Доля яиц (%), отложенных в воду указанной солености			Доля случаев наличия (%)	
		минимальная	средняя	максимальная	яиц	полных кладок
0	29265	11.8	27.89	52.4	100	100
0.3	30030	11.1	26.75	51.3	100	100
0.6	16472	8.3	15.78	24.5	100	100
0.8	16056	6.4	15.94	27.8	100	100
1	10246	3.5	9.17	16.7	100	82
2	4024	1.4	4.31	9.6	100	59
3	851	0	0.81	4.1	94	12
4	398	0	0.25	1	76	0
5	95	0	0.08	0.4	70	0
6	49	0	0.02	0.2	29	0

вание оптимальной плотности дает много преимуществ. Эксперименты показали (табл. 3), что для *Ae. togoi* оптимум близок к 50 особям на дм^2 (при глубине 2 см это составляет 250 особей на дм^3). В этих условиях исследованные характеристики культуры почти не отличаются от таковых при плотности, принятой в исходной культуре (разница не более чем на 10 %). Дальнейшее увеличение плотности резко снижало вес получаемых куколок. Использование плотности посадки 50 личинок/ дм^2 дает возможность в 1.5 раза повысить эффективность использования оборудования и производственных площадей, отведенных для содержания личинок, по сравнению с исходной культурой, где плотность посадки около 30 личинок/ дм^2 (Александрова и др., 1978).

4. Температурные условия для личинок. В попытке ускорить развитие особей (что дало бы повышение производительности культуры, аналогичное повышению плотности посадки) проведена оценка возможности выращивания личинок при более высокой температуре. Одновременно в надежде получить более крупных, а следовательно, и более плодовитых особей, оценены результаты их выращивания при пониженной температуре. Опыты показали (табл. 4), что изменять температуру нецелесообразно. При высокой температуре на 13 % падает выживаемость, на 20 % уменьшается вес куколки, а скорость развития возрастает менее чем на 9 %. Аналогично и с низкими температурами: выживаемость практически не изменяется (разница статистически недостоверна), масса куколок увеличивается на 34 %, что обеспечивает увеличение плодовитости на 29 % (табл. 5), но при этом значительно (в 2.3 раза) замедляется скорость развития.

Таким образом, переход на пресную воду, изменение личиночного корма и повышение плотности посадки особей существенно сократили затраты на поддержание культуры. Качество биоматериала при этом не понизилось. Масса куколок не уступала таковой в исходной культуре, их выживаемость осталась на высоком уровне: 94.3 ± 1.9 — у женских и 96.3 ± 1.5 % — у мужских (исследовано по 600 особей каждого пола), не изменилось также и соотношение полов.

5. Условия содержания имаго. Из-за недостатка места мы не могли полностью воспроизвести условия содержания имаго, принятые в исходной культуре. Мы содержали их в садках объемом 5 дм^3 (что почти в 45 раз меньше, чем в исходной культуре), практически в полной темноте — свет зажигался не более чем на 1 ч в сутки во время уборки помещения и обслуживания садков (смена глюкозы, сбор яйцекладок и т. п.), донором крови был кролик, а не крыса. Но эти изменения условий не вызвали отрицательных последствий: продолжительность жизни комаров была примерно такой же, как в исходной культуре, а осемененность самок даже выше (табл. 6). Хорошая осемененность наблюдалась во всех вариантах размеров садков, самый большой из которых был почти в 3.5 раза, а самый маленький в 200 раз меньше применяемого в исходной культуре.

О способности комаров данного вида копулировать в небольших объемах (от 12 до 96 дм^3) уже писали (Чагин, 1943; Trimble, Wellington, 1979), но о том, что это может происходить в дециметровых садках и в отсутствие суточного ритма смены освещенности, известно не было. Сокращение размеров садков упростило требования к размерам помещения, облегчило изготовление садков и манипуляции с ними. Отказ от специального светового режима позволил сэкономить средства на создание и эксплуатацию соответствующего оборудования.

6. Плодовитость имаго. Специальные исследования (табл. 5) показали, что у *Ae. togoi*, как и у *Ae. aegypti* (Steinwascher, 1982), существует тесная связь плодовитости самок на 1-м репродуктивном цикле (конечно, в том случае, если они примут полную порцию крови) с массой женских куколок (коэф-

фициент корреляции 0.99 ± 0.13). Эта связь имеет вид $Y = 13.7 + 15.8X$, где Y — среднее число яиц (шт.), X — масса женских куколок (мг). В эту зависимость укладываются данные о плодовитости самок в исходной культуре.

Использование выявленной зависимости имеет следующие практические преимущества: 1) взвешивание куколок требует в десятки раз меньше времени, чем кормление комаров кровью и подсчет яиц; 2) путем взвешивания куколок мы можем судить о плодовитости заранее, по крайней мере за неделю до того, как из этих куколок вылетят комары, напьются крови и разовьют яйца (Расницын и др., 1983).

В рабочей культуре плодовитость комаров была близка к ожидаемой для массы их куколок (около 8 мг) и составила 167 ± 10 яиц на самку. Это говорит о том, что большинство особей принимало полную порцию крови.

7. «Солелюбивость» *Ae. togoi*. Обнаруженная возможность развития личинок в пресной воде поставила вопрос о солелюбивости этого вида. Ответ найден путем изучения откладки комарами яиц. Для этого в садок с комарами помещали 10 одинаковых чашек с растворами NaCl от 0 до 6 %. Расположение чашек было рандомизировано. Оценка числа яиц, отложенных в каждую чашку, приведена в табл. 7; в ней обобщены результаты 17 опытов, в каждом из которых было отложено не менее 1500 яиц (всего более 107 тыс.). Результаты показывают, что комары одинаково часто откладывают яйца и в пресную воду, и в воду, содержащую небольшое количество соли (0.3 %). Дальнейшее повышение солености препятствует откладке, а при достижении уровня, близкого к морской воде (3 %), доля отложенных яиц сокращается до 1 %. При этом, как правило (88 %), это единичные яйца, а не полные кладки. Тот факт, что единичные яйца встречаются даже в очень соленой воде (6 %), объясняется, вероятно, следующим: готовая к яйцекладке самка привлекается к воде по градиенту влажности, садится на ее поверхность и почти сразу же приступает к откладке яиц. Чем выше соленость воды, тем быстрее на нее реагируют хемочувствительные рецепторы на лапках, и самка прекращает откладку яиц и улетает.

Сопоставление выбора комарами воды для откладки яиц и способности личинок развиваться при разной солености (раздел 2) позволяет сделать следующий вывод: *Ae. togoi* (по крайней мере исследованный штамм) не солелюбив, а солеустойчив.

ВЫВОДЫ

1. В качестве корма личинок *Ae. togoi* можно использовать дрожжи или кормовой концентрат для лабораторных животных. Применение указанных кормов требует меньше затрат, чем сложной среды в исходной культуре.

2. Личинок *Ae. togoi* можно выращивать в пресной воде. В этом случае опадают затраты труда на приготовление соленой воды и поддержание стабильной концентрации соли в сосудах с личинками.

3. Плотность посадки личинок *Ae. togoi* можно повысить до 50 особей на дм^2 (при глубине слоя воды 2 см), что в 1.5 раза выше, чем в исходной культуре. Это позволяет более эффективно использовать оборудование и производственные площади при сохранении качества биоматериала в культуре.

4. Оптимальная температура выращивания личинок $26\text{—}27^\circ$. Повышение температуры до $29\text{—}32^\circ$ вызывает снижение выживаемости, массы и плодовитости особей. Снижение температуры до $16\text{—}19^\circ$ не сказывается на выживаемости и позволяет получить более крупных и плодовитых особей, но при этом их развитие замедляется более чем в 2 раза.

5. Окрыленных комаров *Ae. togoi* можно держать в небольших садках (до 1 дм^3), в темноте и кормить их кровью кролика. В этих условиях происходит успешное осеменение, кровососание и откладка яиц. Применение малых

садков и отказ от специального режима освещения сокращают затраты на поддержание культуры.

6. У *Ae. togoi* существует тесная связь между весом куколок и плодовитостью имаго. Использование формулы, приведенной в тексте, позволяет определить ожидаемое число яиц заранее и с меньшими затратами труда.

7. Личинки *Ae. togoi* одинаково успешно развиваются как в пресной, так и в соленой (до 2 %) воде. Увеличение солености до 3 % сопровождается небольшим снижением массы особей, дальнейшее повышение солености вызывает значительное снижение как массы, так и выживаемости и скорости развития. При 6 % выживает всего 2 % особей. Несмотря на широкий диапазон переносимой личинками солености, самки предпочитают откладывать яйца в пресную или слабосоленую (0.3 %) воду. Из этого следует, что данный вид не солелюбив, а солеустойчив.

Список литературы

- Александрова К. В., Тамарина Н. А., Резник Е. П. Опыт лабораторного культивирования комара *Aedes togoi* (Diptera, Culicidae) // Паразитология. 1978. Т. 12, вып. 2. С. 167—169.
- Демина В. Т., Шагов Е. М., Расницын С. П. Оптимизация плотности содержания личинок *Anopheles sacharovi* Favre (Diptera, Culicidae) // Мед. паразитол. 1985. № 4. С. 56—58.
- Крашкевич К. В., Тарасов В. В. Медицинская паразитология. М.: Изд-во МГУ, 1969. 390 с.
- Маркович Н. Я. Немалярийные комары (подсем. Culicinae) // Руководство по медицинской энтомологии. М.: Медицина, 1974. С. 103—133.
- Расницын С. П. Питательная среда для выращивания личинок желтолихорадочного комара *Aedes aegypti*. Автор. свидет. СССР № 790 389 // Бюл. Открытия, изобретения, промышленные образцы, товарные знаки. 1980. № 47. С. 18.
- Расницын С. П. Анализ применимости показателей, характеризующих размеры, вес и плодовитость комаров, в качестве морфофизиологических индикаторов // Паразитология. 1986. Т. 22, вып. 2. С. 106—111.
- Расницын С. П., Шагов Е. М., Демина В. Т. Возможность использования массы куколок как показателя состояния особей у комаров // Мед. паразитол. 1983. № 4. С. 42—45.
- Тарасов В. В. Экология кровососущих насекомых и клещей. М.: Изд-во МГУ, 1988. 264 с.
- Чагин К. П. Наблюдения за циклом развития *Aedes (F.) togoi* в лабораторных и природных условиях // Мед. паразитол. 1943. Т. 12, № 2. С. 44—52.
- Asakura K. Phosphatase activity in the larva of the euryhaline mosquito, *Aedes togoi* Theobald, with special reference to sea-water adaptation // J. Exp. Mar. Biol. and Ecol. 1978. Vol. 31, N 3. P. 325—337.
- Asakura K. The anal portion as a salt-excreting organ in a sea-water mosquito larva, *Aedes togoi* Theobald // J. Comp. Physiol. 1980. Vol. B 138, N 1. P. 59—65.
- Asakura K. A possible role of the gastric caecum in osmoregulation of the sea-water mosquito larva, *Aedes togoi* Theobald // Annot. Zool. Jap. 1982. Vol. 55, N 1. P. 1—8.
- Chapman H. C., Barr A. R. Techniques for successful colonization of many mosquito species // Mosquito News. 1969. Vol. 29, N 4. P. 532—535.
- McGinnis K. M., Brust R. A. Effect of different seasalt concentration and temperatures on larval development of *Aedes togoi* (Diptera, Culicidae) from British Columbia // Environ. Entomol. 1983. Vol. 12, N 5. P. 1406—1411.
- Lien J. Laboratory culture of *Aedes (Finlaya) togoi* (Theobald) and measurement of its susceptibility to insecticides // Entomologia experimentalis et applicata. 1960. Vol. 3, N 4. P. 267—429.
- Singh K. R. P., Brooks G. D., Ansari M. A. Mass rearing of mosquitoes // J. Commun. Diseases. 1974. Vol. 6, N 2. P. 121—126.
- Steinwascher K. Relationship between pupal mass and adult survivorship and fecundity for *Aedes aegypti* // Environ. Entomol. 1982. Vol. 11, N 1. P. 150—151.
- Trimble R. M., Wellington W. Q. Colonization of North American *Aedes togoi* // Mosquito News. 1979. Vol. 39, N 1. P. 18—20.
- Weatherly A. B. Colonization of six species of mosquito in Japan // Mosquito News. 1962. Vol. 22, N 1. P. 31—34.
- ИМПитМ им. Е. И. Марциновского,
Москва
- Поступила 12.05.1989,
после доработки 10.12.1990

POSSIBILITIES OF IMPROVING THE AEDES TOGOI CULTURE AND SOME
DATA ON THE ECOLOGY OF THIS SPECIES

V. V. Jasiukevich, S. P. Rasnitsyn

Key words: *Aedes togoi*, laboratory culture of mosquitoes

S U M M A R Y

A possibility of rearing *Aedes togoi* larvae in fresh water on simple diet and at the density of 50 larvae/dm² is shown. The mosquitoes were held in small cages up to 1 dm³. The larvae developed successfully at a concentration of NaCl from 0 to 4 %, mosquitoes prefer to lay eggs in fresh water. It was concluded that the investigated strain is not salt-loving but salt-tolerant.
